

FACULTE DE MEDECINE SAINT-ANTOINE PARIS

ANNEE 1970/1971

N° 35

16

T H E S E
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
Diplôme d'Etat

par BRUBAN Philippe (AEHP)

né le 22 Avril 1940 à TOULON (Var)

Présentée et soutenue publiquement le 1971

LA MATURITE FOETALE
ET
LES CELLULES DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

Président : R. MERGER Professeur

ANNEE 1970/1971

N° 35

T H E S E
pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
Diplôme d'Etat

par BRUBAN Philippe (AEHP)

né le 22 Avril 1940 à TOULON (Var)

Présentée et soutenue publiquement le

LA MATURITE FOETALE
ET
LES CELLULES DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

Président : R. MERGER Professeur



A MES PARENTS

AU PROFESSEUR R. MERGER

qui a bien voulu présider notre jury de thèse.

En témoignage de notre reconnaissance pour son enseignement.

Nous le remercions de nous avoir accepté comme élève dans son service.

Au PROFESSEUR AGREGÉ J. SANTARELLI

qui a bien voulu nous confier le sujet de cette thèse.

En témoignage de notre reconnaissance pour son précieux enseignement et sa constante sollicitude.

Au DOCTEUR F. PINON

En témoignage de notre reconnaissance pour la bienveillance qu'il a toujours montré à notre égard, en remerciement de l'exceptionnel climat qu'il a su faire régner dans son équipe.

Lorsque la mère et l'enfant courent un danger au cours de la grossesse, on peut être amené à interrompre celle-ci dans son dernier trimestre.

Cette décision est particulièrement difficile à prendre quand on craint une mort foetale in utero.

Il faut donc choisir le meilleur moment pour interrompre la grossesse et l'on est parfois amené à mettre en balance le danger d'une souffrance foetale et les risques de l'immaturité.

Habituellement pour décider d'un accouchement prématuré, soit par déclenchement de travail, soit par opération césarienne, on se fie aux constatations cliniques. Mais on a parfois la surprise de mettre au monde un enfant très prématuré.

Les ressources de l'examen clinique ne sont donc pas toujours suffisantes pour apprécier l'âge d'une grossesse ; En effet, les fantaisies de la mémoire, les irrégularités menstruelles, la possibilité d'hémorragies en début de grossesse concourent à rendre imprécise la date de la fécondation.

La mesure de la hauteur utérine n'est guère plus fidèle lorsque l'on connaît la différence de taille des foetus à une date déterminée, les quantités variables de liquide amniotique, l'embonpoint quelquefois important des femmes enceintes.

C'est pourquoi d'autres procédés ont été proposés pour tenter d'estimer le degré de développement atteint par le foetus.

- RADIOGRAPHIE

Elle permet de mesurer certains os du squelette et d'observer la présence ou l'absence des points d'ossification épiphysaires. A partir de ces faits de nombreux auteurs ont tenté d'évaluer la taille du fœtus et son âge.

En 1967 BRANDFASS et HOWLAND pensaient ainsi prévoir les poids de naissance supérieurs à 2.250 Gr et ce avec 90 % d'exactitude.

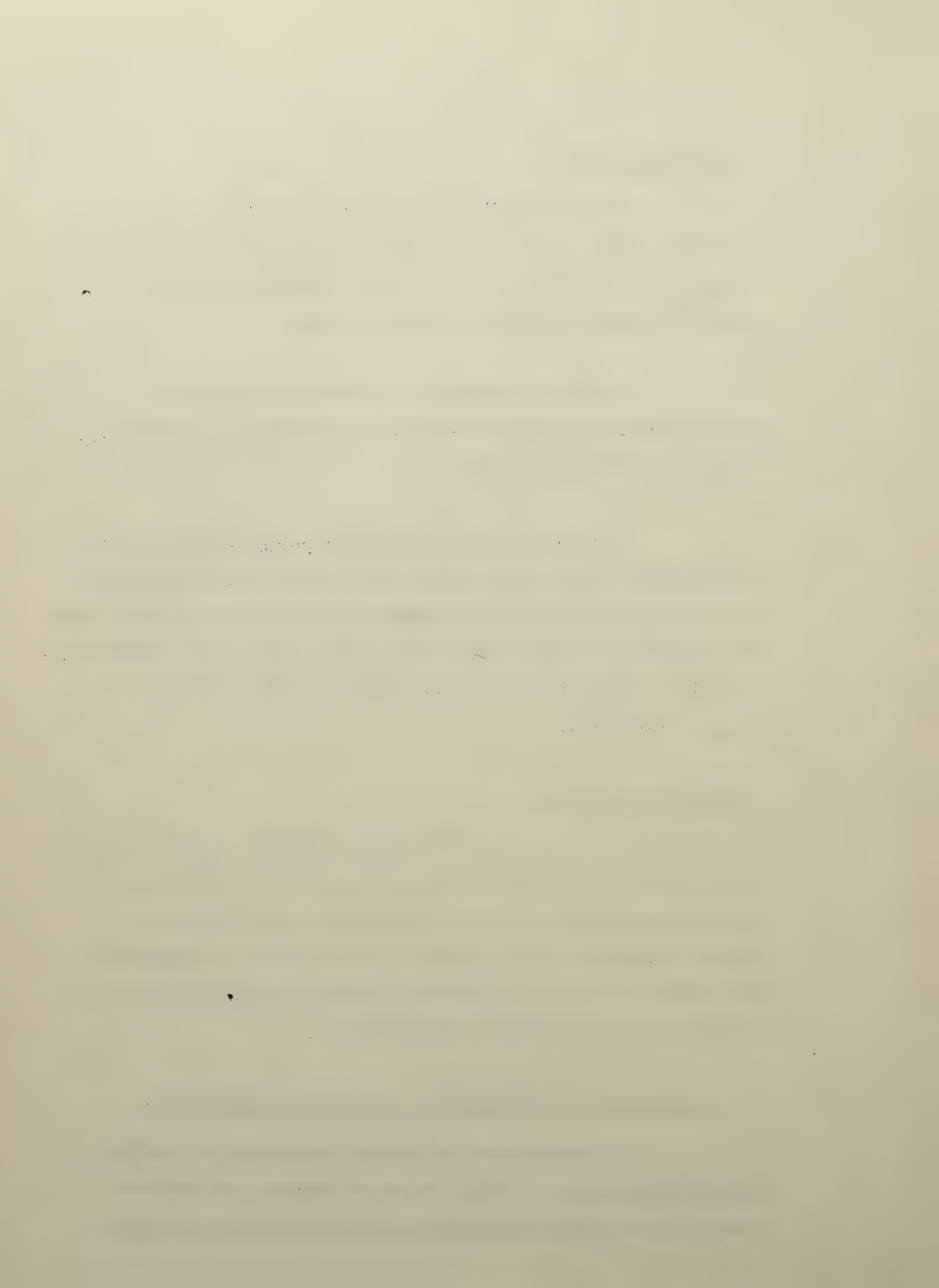
Cependant DEE, radiographiant des jumeaux après la naissance, notait chez eux de telles différences d'ossification que la relation entre la date d'apparition des points d'ossification et la taille de l'enfant pouvait être mise en doute. Il considérait donc la radiographie comme un médiocre moyen d'apprécier l'âge gestationnel.

- LES ULTRA-SONS

Préconisés par DONALD et BROWN (1961) les ultrasons semblent un meilleur moyen diagnostique CAMPBELL (7) grâce à des mesures faites entre la 20^e et la 30^e semaine, réussit à prédire à 8 jours près le terme exact de la grossesse. Mais il existe un large éparpillement des valeurs du diamètre bi-pariétal après la 30^e semaine.

- L'ANALYSE BIOCHIMIQUE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

La composition du liquide amniotique se modifie durant la grossesse. Actuellement de nombreux auteurs recherchent un élément permettant d'évaluer l'âge gestationnel.



C'est ainsi que lorsque l'osmolarité est inférieure à 245 mOsm/Kg., l'urée supérieure ou égale à 30 mg. % et la créatinine au dessus de 1,6 mg. % la grossesse semble avoir atteint le terme de 38 semaines. (LIND) (12) (14)

- L'EXAMEN CYTOLOGIQUE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

Etudié tout d'abord par BROSENS & GORDON, puis par d'autres auteurs, ce moyen diagnostique fait l'objet de notre travail.

CYTOLOGIE DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

A l'heure actuelle la classification et l'identification des cellules que l'on retrouve dans le liquide amniotique ne sont pas clairement établies.

Nous rappellerons rapidement les aspects cellulaires révélés par différents colorants, en insistant plus particulièrement sur la cytologie telle qu'elle apparaît en utilisant le Sulfate de Bleu de Nil (S. B. N.)

Les cellules présentes dans le liquide amniotique semblent provenir de l'amnios et du fœtus.

- Avant la 16^e semaine : le liquide est pauvre en cellules, elles sont presque toutes nucléées et contiennent une abondante substance PAS + (10).

- De la 16^e à la 22^e semaine : les cellules sont plus nombreuses mais la majorité d'entre elles est anucléée.

HOYES (10) en dehors des nombreuses formes intermédiaires distingue deux types de cellules :

1°) - CELLULES FOETALES : assez grandes, polygonales, souvent anucléées ou à noyau pycnotique. Elles sont souvent PAS - parfois PAS +, sensibles à l'amylase salivaire.

2° - CELLULES AMNIOTIQUES : dont la taille est inférieure à celle des précédentes, le noyau volumineux central ou excentrique, le cytoplasme souvent vacuolé. Elles contiennent presque toujours une abondante substance PAS + qui résiste parfois à l'amylase salivaire. Elles apparaissent souvent en amas et possèdent une activité phagocytaire.

Cet auteur note une grande ressemblance entre les cellules amniotiques et les macrophages. En outre, il pense que les cellules exfoliées dans le liquide amniotique dégénèrent rapidement.

Il ne fait pas mention dans son étude, en grande partie ultra microscopique, des glandes et des cellules sébacées.

BISHOP & CORSON (3) en utilisant le S. B. N., distinguent quatre variétés de cellules :

1°) - les plus nombreuses sont assez grandes, le cytoplasme abondant, légèrement bleuté, le noyau bleu foncé. Elles se présentent presque toujours isolément. Ce sont des cellules épithéliales d'origine foetale.

2°) - le deuxième type cellulaire le plus souvent rencontré diffère totalement du précédent par la coloration du cytoplasme, habituellement orange, mais allant du rose au brun. Ces cellules sont plus petites que les précédentes, le noyau n'est pas visible. Ils pensent qu'elles proviennent des glandes sébacées du fœtus. Bien que souvent isolées, ces cellules sont parfois groupées en amas.

3°) - Des amas de petites cellules bien colorées, au noyau bleu foncé assez volumineux. Elles proviendraient du tractus urinaire.

4°) - Des cellules sans aspect caractéristique, ne prenant pas le colorant. BISHOP les considère comme étant des cellules épithéliales soit mortes ou dégénérées, soit provenant du tractus respiratoire du fœtus.

SHARP (15) lui, reconnaît deux types d'éléments colorés en orange :

1°) - Une cellule dont les limites sont bien visibles, remplie de lipides, mais dont le noyau n'est pas discernable. Pour lui, se sont les véritables cellules sébacées, provenant directement de la glande.

2°) - Une cellule polygonale, avec ou sans noyau et dont le cytoplasme le plus souvent ne se colore pas en bleu. Il y a, à la surface de ces cellules, étalées régulièrement ou fragmentées une substance lipidique colorée en orange. SHARP suggère d'appeler ces cellules :

Cellules du vernix. Ce vernix est composé de débris lipidiques, de cellules desquamées et de lanugo.

Nous avons essentiellement vu ce deuxième type de cellules dans les prélèvements effectués immédiatement après la naissance de l'enfant ou par ponction de la poche des eaux à une dilation suffisante. Nous pensons qu'il s'agit en fait d'altérations (les globules lipidiques étant rejetés hors des cellules)

car nous n'avons jamais remarqué cet aspect en dehors du travail.

WACHTEL (16) mentionne une autre variété de cellules. Il les appelle "cellules bouteilles". Elles proviendraient d'une modification de l'épithélium amniotique. Ce dernier, au début de la grossesse est bas et cuboïde, alors qu'il est élevé près du terme. Il n'a jamais remarqué ces "cellules bouteilles" faites d'un corps fusiforme et d'un noyau basal ou parabasal, avant la 30^e semaine.

Nous n'avons jamais observé quant à nous, ce type de cellule.

BOURNE (2) pense que cet aspect n'est dû qu'à une plicature. Nous le pensons également. Cependant WACHTEL a obtenu après des "frottis appuyés" de l'amnios des amas de petites cellules rondes à noyau central. Il leur trouve une ressemblance avec les cellules de type "parabasal" présentes dans le liquide amniotique. Mais on peut alors se demander ce que sont ces cellules rondes obtenues à partir d'un épithélium cuboïde unistratifié et s'il s'agit d'un artéfact.

CLASSIFICATION DES CELLULES DU LIQUIDE AMNIOTIQUE

Dans cette étude, en utilisant le sulfate de bleu de Nil à 0, 1% suivant la technique de BROSENS & GORDON, nous distinguons d'emblée sous le microscope :

- 1°) - des cellules colorées en bleu, de plusieurs types
- 2°) - des cellules colorées en orange dont le nombre s'accroît au fur et à mesure que l'on s'approche du terme.

A - LES CELLULES COLOREES EN BLEU

Nous avons été frappés par la ressemblance existant entre ces cellules et les cellules vaginales. Cela a été remarqué par de nombreux auteurs et actuellement il semble se dégager une terminologie empruntée à la cytologie vaginale pour décrire ces cellules.

FLOYD (9), pendant la rédaction de cette thèse a publié un travail sur la cytologie du liquide amniotique et de nombreux aspects étaient analogues à ceux que nous avons nous même observés. Nous utiliserons la même terminologie que cet auteur.

Nous avons vu différents types de cellules :

1°) - CELLULES SUPERFICIELLES :

Grandes cellules polygonales d'environ 120 microns au cytoplasme très légèrement coloré en bleu, vacuolé et conte-

nant parfois aux approches du terme de fines inclusions lipidiques (colorées en orange). Elles sont anucléées ou possèdent un noyau pycnotique (ces aspects correspondent respectivement aux squames anucléées et aux cellules kératinisées de FLOYD, mais nous les groupons dans la même catégorie car c'est ce type de cellules que nous comptons pour établir nos pourcentages). Elles proviennent de la peau du fœtus comme le confirment les frottis de peau que nous avons fait chez le nouveau né immédiatement après la naissance.

2°) - CELLULES PRE KERATINISEES +

La terminologie est identique chez FLOYD. Ce sont des cellules également polygonales mais un peu plus petites 100 microns et dont le cytoplasme est un peu plus foncé. Elles sont toujours nucléées et sont très probablement issues de la peau du fœtus.

3°) - CELLULES INTERMEDIAIRES

La terminologie est identique chez FLOYD. Ce sont des cellules encore plus petites 80 microns, mais arrondies et dont le cytoplasme est encore plus foncé. Le noyau est plus ou moins central.

4°) - CELLULES PARABASALES

Cellules rondes encore plus petites que les précédentes 40 microns, mais dont le noyau à la même taille. La terminologie est identique chez FLOYD. Les cellules amniotiques ont pratiquement le même aspect.

5*) - CELLULES FUSIFORMES qui ne sont que des cellules plicaturées, peut être semblables à celles décrites par WACHTEL et par BOURNE.

6*) - Occasionnellement il nous a été possible de voir des placards de cellules rondes, sans structure bien visible, ainsi que de petites cellules bleutées, polygonales. Ces cellules proviendraient du tractus urinaire, respiratoire ou de la bouche du fœtus.

B - LES CELLULES COLOREES EN ORANGE

Elles ont à peu près la même taille que les cellules intermédiaires 80 microns. Le cytoplasme est rempli de lipides qui lui confèrent une teinte orange (allant du rose au brun). Le noyau n'est pas visible. D'après l'hypothèse de BROSENS, ces cellules proviendraient des glandes sébacées du fœtus.

- EN RESUME :

Grâce au sulfate de bleu de Nil (qui colore en bleu les acides gras libres et en orange les graisses neutres, c'est tout au moins l'opinion de FLOYD, car ce fait n'est pas admis par tous les cytologistes), il est possible d'isoler deux variétés de cellules dans le liquide amniotique : les unes colorées en bleu, les autres colorées en orange.

On peut décrire les cellules bleues dans les termes utilisés pour décrire la cytologie vaginale : cellules parabasales, intermédiaires, superficielles. Il faut noter que la coloration

bleue du cytoplasme diminue d'intensité au fur et à mesure que l'on s'approche du type "superficiel", tandis que le noyau devient de plus en plus pycnotique, avant de disparaître.

Les liquides jeunes renferment peu de cellules. Les cellules oranges apparaissent en nombre progressivement croissant durant la gestation.

Il est certain que les auteurs utilisant la technique de PAPANICOLAOU ont observé d'autres aspects cellulaires ou plus exactement cytoplasmiques. Cependant il existe une assez bonne relation entre leurs descriptions et ce qui a été observé avec le sulfate de bleu de Nil.

APPRECIATION DE LA MATURITE FOETALE
PAR L'EXAMEN CYTOLOGIQUE DU
LIQUIDE AMNIOTIQUE :

- PREAMBULE

C'est l'une des méthodes proposées pour tenter d'apprécier la maturité du fœtus et éviter ainsi de mettre au monde des enfants trop prématurés.

A la suite de KITTRICH (1963) - (11) BROSENS & GORDON avaient noté que certaines cellules du liquide amniotique étaient colorées en orange par le sulfate de bleu de Nil.

C'est grâce à cette coloration qu'ils proposaient en 1965 un moyen diagnostique de rupture des membranes (4).

Ils pensaient que ces cellules provenaient des glandes sébacées du fœtus et leur présence dans l'écoulement vaginal traduisait donc une rupture des membranes.

Ils notaient également à cette époque, que ces cellules étaient peu nombreuses avant la 38^e semaine et en 1966 ces auteurs mettaient en évidence le fait essentiel : la brusque augmentation des cellules orange à la 38^e semaine (5).

Ils classaient les cellules présentes dans le liquide amniotique en deux variétés : celles colorées en bleu et celles

colorées en orange. Ils établissaient le pourcentage respectif sur 500 cellules.

Par la suite les travaux concernant ce sujet furent plus nombreux : SHARP (1968), BISHOP & CORSON (1968), ROBERTO VOTTA (1968), CHAN & WILLIS, puis PUIKOVITCH (1968 etc...).

Tous confirmaient la brutale augmentation des cellules oranges entre la 36^e et la 38^e semaine. Parallèlement l'étude cytologique du liquide amniotique se développait, permettant une meilleure interprétation des aspects cellulaires de ce dernier. Nous nous sommes proposés dans cette étude de vérifier, après BROSENS & GORDON, si cette méthode d'estimation de la maturité foetale donnait des garanties suffisantes pour avoir un intérêt pratique.

Connaissant les difficultés d'appréciation de la maturité foetale, nous avons pris le critère universellement admis de poids égal ou supérieur à 2.500 grammes. Par contre nous avons considéré mûrs les enfants d'un terme égal ou supérieur à 36 semaines. C'est d'ailleurs à cette date que se produit la brusque augmentation du pourcentage des cellules oranges.

NOS RESULTATS

- NOMBRE

230 échantillons de liquide amniotique, prélevés de la 26° à la 42° semaines ont été étudiés. Le terme de la grossesse au moment de la ponction a été calculé à partir de la date des dernières règles.

Les échantillons ont été recueillis à la maternité de l'Hôpital SAINT-ANTOINE, Service du Professeur MERGER et dans le Service des maladies Hémolytiques du nouveau né (M. H. N. N.) Docteur F. PINON.

131 femmes ont été ponctionnées et parmi elles 57 l'ont été plusieurs fois, ce qui nous a permis de suivre les modifications cellulaires durant la grossesse.

Dans leur majorité, les prélèvements ont été faits par amiocentèse transabdominales. Dans quelques cas, les prélèvements ont été faits lors de césariennes ou au cours du travail à travers la poche des eaux.

Avant de mettre au point notre technique, nous avons essayé d'autres modes de prélèvements :

- prélèvement de liquide lors de la rupture de la poche des eaux
- prélèvement de liquide immédiatement après la sortie de l'enfant.

Ces prélèvements faits par voie vaginale étaient contaminés par du sang et des leucocytes mais surtout par des cellules desquamées de l'épithélium vaginal. Cet épithélium vaginal est coloré en bleu par le S.B.N. et bien qu'il ne contienne pas de cellule lipidique il rend pratiquement impossible toute numération en raison des analogies cellulaires des épithéliums.

Bien que les échantillons prélevés immédiatement après la sortie du fœtus, sur les arrières eaux, ne contiennent presque plus de cellules vaginales, comme si le fœtus avait essuyé le vagin lors de son passage, nous avons abandonné ce mode de prélèvement pour l'estimation de maturité fœtale.

- REPARTITION DES AMNIOCENTESES SUIVANT LEURS INDICATIONS

39 grossesses étaient normales et nous ont permis d'obtenir 51 échantillons de liquide amniotique, (2 grossesses trigémellaires ayant été ponctionnées plusieurs fois). Sur ces 39 grossesses, 7 étaient suspectes de terme dépassé.

86 femmes avaient une iso-immunisation au facteur Rhésus, 52 d'entre elles ont eu plusieurs ponctions ce qui nous a permis d'obtenir 170 échantillons de liquide amniotique.

4 femmes étaient diabétiques et 2 avaient une toxémie associée.

1 grossesse s'accompagnait d'hypotrophie foetale et de toxémie sévère.

1 grossesse était compliquée d'un hydramnios géant.
AU TOTAL, 230 échantillons ont été obtenus chez 131 femmes, 57 d'entre elles ayant eu plusieurs ponctions.

- REPARTITION DES AMNIOCENTESES SUIVANT LE TERME

Le terme est calculé en semaines à partir de la date des dernières règles.

<u>SEMAINES</u>	<u>NOMBRE DE CAS</u>
26	2
27	6
28	13
29	14
30	18
31	19
32	23
33	19
34	30
35	24
36	16
37	7
38	13
39	15
40	6
41	5

- TECHNIQUE

Nous avons utilisé la technique de BROSENS & GORDON EN LA MODIFIANT LEGEREMENT (6). Ces auteurs mélangent sur une lame une goutte de liquide amniotique avec une goutte de S. B. N. à 0, 1%. La préparation légèrement tiédie est recouverte d'une lamelle et placée sous le microscope.

Le pourcentage entre les cellules colorées en orange et celles colorées en bleu, établi sur 500 éléments, est alors réalisé.

En 1968, BISHOP & CORSON ont modifié le procédé en ne comptant que certaines cellules bleues (sans bien préciser lesquelles) qu'ils pensent être d'origine foetale.

Dans cette étude, nous avons gardé la même technique de coloration mais nous procédons de la manière suivante :

- une goutte de S. B. N. à 0, 1% est mélangée à une goutte de liquide amniotique non centrifugée, puis recouverte d'une lamelle (22 x 30 mm) le chauffage ne nous a pas paru indispensable.
- l'examen de la préparation se fait sous le microscope (Gross : 80) en faisant un balayage systématique de la lamelle.

A la différence de BISHOP & CORSON et de la plupart des auteurs, nous établissons notre pourcentage entre d'une part

les cellules polygonales anucléées ou à noyau très pycnotique, dont le cytoplasme est d'un bleu très clair. Ce dernier contient parfois aux approches du terme de fines inclusions lipidiques colorées en orange. Nous les avons décrites comme des cellules de type "superficiel".

Les cellules colorées en orange sont facilement distinguées des globules lipidiques libres. Ceux-ci sont, en effet, de forme régulière, arrondie et surtout ils n'ont aucune structure cellulaire. Ils sont particulièrement nombreux quand le vernix est abondant, lors du travail ou lorsqu'un liquide mal conservé s'altère, les lipides sortant alors de la cellule.

Des amas de cellules oranges peuvent se voir à tout moment de la grossesse mais ils sont plus nombreux près du terme. On a chaque fois tenté de les évaluer, 5, 10 cellules négligeant les amas plus importants.

Contrairement à la technique de BROSENS & GORDON, il nous a semblé suffisant d'établir notre pourcentage sur 100 cellules et non sur 500. Dans certains cas, grossesse à terme précoce, excès de liquide, le faible nombre de cellules ne permet pas d'en compter 100 sur la préparation. Dans ces conditions, peu fréquentes en vérité, le compte est parachevé sur une deuxième préparation. Cette méthode est rapide et de peu d'inconvénient.

RESULTATS

1) - EN CE QUI CONCERNE LA TECHNIQUE DE PRELEVEMENT

La seule technique utilisable est la ponction transabdominale. Cet échantillon se conserve aisément lorsqu'il est placé dans le compartiment à glace d'un réfrigérateur. Nous avons pu ainsi ré-examiner des liquides quatre mois après une première lecture. Nous n'avons pas observé d'altération cellulaire ni de modification dans le pourcentage des cellules. Cette longue conservation nous a été très utile pour vérifier, après la naissance, la concordance entre le pourcentage de cellules oranges et la maturité foetale et pour éclairer certaines discordances.

Par contre les liquides prélevés par voie vaginale, après rupture de la poche des eaux ou immédiatement après la sortie de l'enfant, se conservent beaucoup moins bien, les derniers un peu mieux cependant.

Ces derniers échantillons ne figurent pas dans cette étude. Ils étaient presque toujours et très rapidement altérés : les lipides étaient rejetés hors de la cellule. Ceux-ci s'agglutinent sous forme de gouttelettes à la surface des cellules. Il est vraisemblable que ces altérations surviennent *in utero* au

cours du travail. D'autre part, ainsi que nous l'avons déjà mentionné, la numération est pratiquement impossible.

Au cours du travail, les prélèvements nous ont permis de constater que le liquide amniotique renfermait, alors que les membranes étaient intactes, un grand nombre de polynucléaires. On connaît mal leur origine.

II) - EN CE QUI CONCERNE LA DATE D'APPARITION DES CELLULES ORANGES

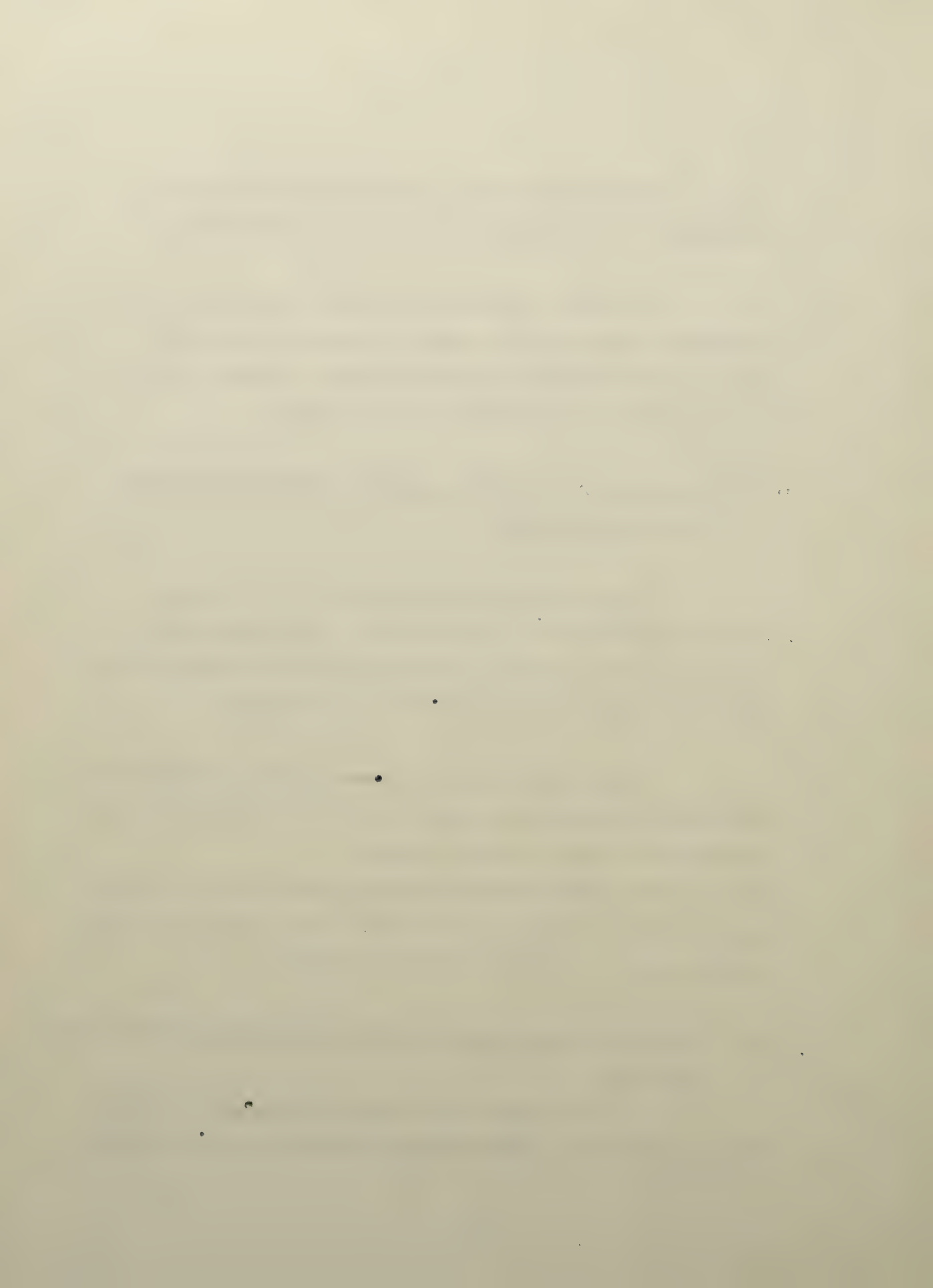
Leur présence a été notée dès la 26^e semaine, date de l'amniocentèse la plus précoce. Leur pourcentage est faible, mais des ponctions successives nous ont montré qu'elles pouvaient n'apparaître qu'à la 30^e ou la 35^e semaine.

Notre étude confirme la constatation de BROSENS & GORDON c'est-à-dire la brusque élévation du nombre des cellules oranges à partir de la 36^e semaine.

Nous n'avons jamais noté leur absence après cette date sur 62 liquides prélevés après la 36^e semaine. Ainsi nous pensons qu'il existe toujours à terme des cellules oranges.

III) - EN CE QUI CONCERNE LE POURCENTAGE DES CELLULES ORANGES

Le fait majeur est la brusque élévation au-delà de 20% du nombre des cellules oranges à partir de la 36^e semaine.



Cependant, après cette date nous avons noté des pourcentages inférieurs à 20% dans 15 cas et des pourcentages supérieurs dans 10 cas, avant cette date. Nous y reviendrons. Cette ascension est particulièrement nette. Lors des ponctions successives, nous avons vu aux alentours de la 37^e semaine les taux passer respectivement de 2 à 54%, de 2 à 43% et de 28 à 60% dans trois cas et ce en moins de 5 jours.

Mais l'augmentation du pourcentage des cellules oranges ne subit pas une progression constante. Il est variable non seulement d'une femme à l'autre mais également chez la même femme. Nous avons même constaté dans quelques cas des pourcentages stationnaires ou transitoirement en légère diminution (phénomène déjà noté par BROSENS).

Après la 36^e semaine et au-delà de 20%, le nombre de cellules oranges est des plus variables sans qu'on puisse en tirer une conclusion particulière quant à l'âge ou au poids (taux allant de 22 à 90% pour des enfants pesant plus de 1.400 Gr et moins de 4.000 Gr.

Nous avons rassemblé sur le tableau n° 1 les résultats des 230 échantillons de liquide amniotique et sur le tableau n° 2 les résultats recueillis lors des ponctions répétées chez 57 femmes.

COMMENTAIRES

1°) - CONCERNANT LA DATE D'APPARITION DES CELLULES ORANGES

Il est admis que les cellules oranges sont issues des glandes sébacées du fœtus. Il est donc logique de penser qu'elles sont libérées lorsque ces glandes deviennent fonctionnelles c'est-à-dire vers le 5° ou le 6° mois.

Nous avons noté leur présence dès la 26° semaine. Il est possible d'en trouver plus tôt si l'amniocentèse est plus précoce. Ainsi BISHOP & CORSON (13) les ont trouvées à la 20° semaine. Par contre CHAN & WILLIS (8) disent ne pas en avoir vu avant la 30° semaine. Ces auteurs n'ont pas trouvé non plus de cellules oranges dans 12 cas sur 65 entre la 38° et la 42° semaine.

Ces résultats sont surprenants car sur 39 cas situés entre la 38° et la 41° semaine, nous avons toujours observé des cellules oranges. Ainsi que nous l'avons déjà dit, la date d'apparition de ces cellules est variable mais elles sont toujours présentes après la 36° semaine.

2°) - CONCERNANT LE POURCENTAGE DES CELLULES ORANGES

La desquamation est de plus en plus importante au fur et à mesure que le fœtus mûrit. Avant la 36° semaine, le pourcentage

est inférieur à 20%.

BISHOP & CORSON (3) estiment qu'il y a 80 à 90 chances sur 100 que les foetus soient prématurés lorsque le taux est inférieur à 20%. Quand ce pourcentage est situé entre 2 et 5% les risques de prématurité sont de 60%. Lorsque le taux de 20% est dépassé, les enfants sont mûrs.

L'influence de la race, du sexe foetal et de la parité ont été étudiés par différents auteurs. Aucun n'a d'influence sur les résultats.

De nos recherches il résulte qu'au dessous de 20%, il n'y a aucune proportionnalité entre le pourcentage de cellules oranges et l'âge du foetus. Tout au plus, peut on dire que le foetus n'a très vraisemblablement pas atteint la 36° (et sûrement pas la 38° semaine). En effet, certains liquides renferment 10% de cellules oranges à la 30° semaine, alors que d'autres n'en contiennent pas encore. Pourtant dans l'un et l'autre cas on trouvera 20% ou plus de cellules oranges après la 36° semaine.

3°) - CONCERNANT LES TAUX SUPERIEURS A 20% AVANT LA 36° SEMAINE

Ainsi que nous l'avons signalé nous avons observé 10 liquides provenant de 8 grossesses, où l'on notait plus de 20% de cellules oranges avant la 36° semaine.

1 cas est très vraisemblablement une erreur de calcul
du terme 35^e semaine : 20% Accouchement à la 36^e semaine
3.280 Gr mais le critère du poids est ici respecté.

Pour le reste :

35° S.	30%	Acc.	36° semaine	3.280 Gr (diabète, mort-né macéré)
35° S.	43%	"	36°	2.340 Gr
34° S.	36%	"	34° 1/2	2.850 Gr(TLU)
31° S.	23%	"	34°	2.100 Gr(TLU)
34° S.	20%	"	35°	2.250 Gr
35° S. 1/2	29%	"	39°	3.360 Gr
27° S.	47%			Hydramnios
28° S.	43%			"
31° S.	33%		31°	1.799 Gr (nez mal formé)

Le critère du poids est ici respecté dans deux cas.

A l'exception de la grossesse avec hydramnios et d'une T. I. U.
ces résultats sont répartis entre la 34 et la 35^e semaines. On peut
se demander s'il s'agit d'une inexactitude de la méthode, de cycles
irréguliers, de variations individuelles.

Nous ne savons comment classer la diabétique, s'agit-
il d'une erreur de calcul du terme ou d'une macrosomie fœtale ?

Il faut remarquer : que 4 foetus pesaient moins de 2,500 Gr alors que l'amniocentèse montrait un pourcentage de cellules oranges supérieur à 20%.

- que d'autre part 2 foetus eurent une transfusion in utero, et on peut se demander si cette dernière ou la souffrance foetale sont susceptibles de modifier la desquamation.

- que dans la grossesse avec hydramnios des ponctions successives ont montré, après un taux initialement élevé, une diminution progressive du taux de cellules oranges. C'est le seul cas où nous avons observé cette diminution progressive alors que dans toutes les autres grossesses ce taux augmente avec la maturité foetale.

Après avoir étudié ces 8 grossesses discordantes, 5 enfants étaient manifestement prématurés alors que le pourcentage des cellules oranges était supérieur à 20%. Il y a donc avant la 36^e semaine 3,9% d'inexactitude.

4°) - CONCERNANT LES TAUX INFÉRIEURS À 20% APRÈS LA 36^e SEMAINE

Inversement, nous avons prélevé 15 liquides amniotiques chez 11 femmes où le pourcentage était inférieur à 20% après la 36^e semaine.

5 liquides ont été prélevés chez des triplés, 2 liquides ayant été obtenus à la 36° semaine, 3 autres lors de l'accouchement à la 39° semaine.

36° S.	5%			
36° S.	5%			
39° S.	11%	Acc.	39° S.	2.530 Gr
39° S.	5%	"	39° S.	2.040 Gr
39° S.	14%	"	39° S.	2.530 Gr

2 cas peuvent être considérés comme une erreur de calcul du terme :

39° S.	3%	Acc.	45° S.	3.450 Gr
38° S.	4%	"	44° S.	3.250 Gr

Les enfants, à la naissance, n'étaient pas post-maturés

Pour le reste :

36° S. (X)	4% mais à la 38° semaine	Acc.	40%	3.070 Gr
37° S. (X)	2% " 38° 1/2	"	54%	3.110 Gr
36° S.	15%			
37° S.	1%	"	38° S.	2.500 Gr
36° S.	4%	"	36° S.	2.500 Gr
36° S.	5%	"	37° S.	2.000 Gr
36° S.	13%	"	38° S.	3.300 Gr
36° S.	0%	"	36° S.	2.960 Gr

Nous n'avons pu vérifier, en particulier pour ce dernier cas, si ces faibles taux se maintenaient le jour de l'accouchement.

Ces échantillons ont été prélevés entre la 36^e et la 38^e semaine et nous savons que c'est durant cette période que se produit la brutale augmentation du nombre de cellules oranges. Les premiers cas illustrent bien ce fait (X). Il faut remarquer qu'après la 38^e semaine, exception faite des triplés et des erreurs de calcul du terme, il y a toujours plus de 20% de cellules oranges.

Il y a donc ici, exception faite de la grossesse trigémellaire, 6 cas réellement discordants où les enfants étaient réellement mûrs alors que le pourcentage de cellules oranges était inférieur à 20%. C'est-à-dire que dans 4, 5% des cas la méthode est inexacte.

On peut tenter d'expliquer ces faibles taux par une disparition des cellules oranges ou plus exactement leur intégration au vernix. En effet le vernix coloré par le S.B.N. apparaît formé par de grands amas de cellules polygonales non colorées en bleu avec ici et là quelques cellules colorées en bleu le tout noyé dans une substance lipidique colorée en orange.

SHARP, après la 38^e semaine, lorsqu'il observe un faible taux de cellules oranges note toujours à l'oeil nu la présence de vernix ou sous le microscope la présence de globules gras libres. Il préconise de prendre en ligne de compte ces deux faits : particules de vernix et lipides libres qui indiquent une maturité d'au moins 38 semaines;

D'autre part le foetus à terme n'est guère recouvert de vernix, ce qui devrait faciliter la desquamation dans le liquide amniotique. Pourquoi certains auteurs ne retrouvent-ils pas alors de cellules oranges chez l'enfant à terme ?

Inversement le vernix qui recouvre le foetus n'empêcherait-il pas la libération des cellules ? On pourrait penser qu'elles proviennent secondairement du vernix, il y aurait alors un va et vient des cellules entre le liquide et le vernix.

On ne connaît pas la durée de vie des cellules desquamées dans le liquide. HOYES pense qu'elles dégénèrent rapidement une fois libérées.

5°) - CONCERNANT L'ABSENCE DE CELLULE A TERME

Certains auteurs ont observé des enfants à terme dont le liquide amniotique ne contenait pas de cellule orange. LIND l'observe dans près de 40% des cas.

CHAN & WILLIS, dans 12 cas sur 65 entre la 38° et la 42° semaine. (8)

ANDERSON & GRIFFITH utilisant une méthode un peu différente ont parfois des comptes nuls à terme. (1)

BISHOP & CORSON ne mentionnent pas ce fait mais leurs graphiques le suggèrent pour quelques cas. (3)

BROSENS & GORDON, VOTTA, SHARP n'en parlent pas.

Pour notre part, nous n'avons jamais observé ce fait (à l'exception d'un compte nul à la 36^e semaine) les 34 liquides étudiés lors de l'accouchement renfermaient tous des cellules.

6°) - CONCERNANT LA RELATION ENTRE LE TERME ET LE POURCENTAGE DES CELLULES ORANGES

Nous avons pris pour critères de maturité les chiffres habituellement admis de terme et de poids de 36 semaines et de 2.500 Gr.

BISHOP & CORSON ont montré qu'il existait une relation entre le pourcentage des cellules oranges et l'âge gestationnel ou le poids du fœtus. (3)

La brusque élévation du pourcentage de cellules oranges a lieu entre la 36 et la 38^e semaine. Avant ces dates le taux est variable mais inférieur à 20%, avec les quelques réserves que nous avons mentionnées, après il est largement supérieur à ce chiffre. Entre ces deux dates il existe parfois une incertitude, l'augmentation du pourcentage pouvant ne s'être pas encore produite.

Après avoir éliminer les cas discordants nous avons établi un histogramme. Nous avons ainsi observé que l'augmentation des cellules oranges suivait une courbe sigmoïde dont les points d'inflexion sont situés un peu avant et un peu après la 36^e semaine (tableaux n° 4 et 5).

7°) - CONCERNANT LA RELATION ENTRE LE POIDS DU FOETUS
ET LE POURCENTAGE DES CELLULES ORANGES

Nous avons vu qu'avant la 36^e semaine, sans dépasser 20%, le pourcentage des cellules oranges est des plus variable. On ne peut donc en déduire le poids si ce n'est qu'il n'atteint pas 2.500 Gr (aux réserves près que nous avons signalées)

Au-delà de 20% le poids est presque toujours supérieur à 2.500 Gr.. Mais nous n'avons pas trouvé de relation entre le pourcentage de cellules oranges et le poids du fœtus.

WYATT sur 71 cas en prenant le poids de 2.500 Gr comme critère de maturité, observe que lorsque le taux de cellules oranges est supérieur à 20% l'enfant pesait plus de 2.500 Gr dans 94% des cas et moins de 2.500 Gr dans 6% des cas.

Nous avons nous même vérifié le poids des enfants 39 fois lors de l'accouchement :
2 grossesses étaient trigémellaires : l'une accouchant à la 30^e semaine de fœtus de moins de 2.000 Grs et ayant moins de 10% de cellules oranges,

l'autre accouchant à la 39^e semaine : deux fœtus pesaient 2.500 Gr, le troisième 2.040 Gr. et les pourcentages cellulaires étaient de 11%, 14% et 5% pour le dernier.

Les 29 autres accouchements ont eu lieu après la 38^e semaine, les foetus pesaient plus de 2.500 Gr. et il y avait plus de 20% de cellules oranges.

En réalité, il n'y a rien de surprenant dans la relation entre le taux de cellules oranges et le poids puisque ce dernier est lui même lié au terme. Dans le cas des foetus hypotrophiques le pourcentage semble plus en relation avec le terme qu'avec le poids.

8°) - CONCERNANT LES GROSSESSES PATHOLOGIQUES

C'est ici que la valeur des renseignements apportés par cette méthode est particulièrement importante à discuter puisque c'est dans ces cas que l'on peut être amené à interrompre la grossesse.

On peut se demander si l'existence d'une pathologie de la grossesse associée ou non à une souffrance foetale est susceptible de modifier le pourcentage des cellules oranges.

Le nombre de cellules est la résultante de la desquamation cutanée et de la maturité fonctionnelle des glandes sébacées. La souffrance foetale chronique entraîne des modifications métaboliques des cellules de la peau (SALING) qui peuvent modifier les conditions de desquamation des cellules et donc le pourcentage.

A) - HYPOTROPHIE FOETALE

Nous entendons par là les enfants dont le poids de naissance ne correspond pas au terme.

ANDERSON & GRIFFITHS disent que l'examen n'est pas infirmé lorsque la croissance est retardée, mais ils ne donnent aucune justification. (1)

SHARP dit de même et cite l'exemple d'une grossesse gémellaire bi amniotique. Le pourcentage des cellules lors de l'accouchement était supérieur à 50% et les foetus pesaient respectivement 2.350 Gr et 1.305 Gr, ce dernier avait une anomalie vasculaire du cordon. Dans 6 cas d'hypotrophie, le nombre de cellules oranges était en relation avec le terme pour cet auteur.

L'examen permettrait ainsi de distinguer l'enfant dys-mature du prématuré, le premier ayant un taux élevé de cellules oranges à la différence du second. (15)

Nous avons observé une hypotrophie foetale dans une toxémie sévère.

34 S. 12%

36 S. 22% Acc. 36 S. 1.400 Gr

B) - ISO - IMMUNISATION ANTI RH

170 liquides ont été étudiés. Nous n'avons trouvé aucune modification significative ni dans la date d'apparition des cellules oranges ni dans leur pourcentage, par rapport aux grossesses normales. Nous pensons que cette méthode leur est donc applicable.

WYATT, cependant sur 9 cas n'a jamais observé plus de 1% de cellules avant la 37° semaine. (17)

BROSENS & GORDON, BISHOP & CORSON, qui ont fait une partie de leurs études sur les liquides provenant de grossesses iso-immunisées n'ont pas noté cette particularité.

C) - DIABETE

Nous ne pouvons tirer aucune conclusion de notre étude en raison du trop faible nombre de cas et de leur impureté puisqu'ils sont souvent associés à une toxémie.

WYATT sur 6 grossesses diabétiques n'a trouvé de relation avec la maturité que dans deux cas (malheureusement le critère de maturité choisi est le poids). (17)

Pour nous, nous avons observé 4 cas :

35° S.	3%	Acc.	37° S.	3. 000 Gr
39° S.	70%	"	39° S.	3. 020 Gr (toxémie)
35° S.	30% (mort in utero)	"	36° S.	3. 530 Gr (macéré toxémie)
37° S.	28%	"	37° S.	3. 330 Gr

D) - SUSPICION DE TERME DEPASSE

Les cellules oranges peuvent apporter des renseignements en précisant l'âge gestationnel. Ainsi dans trois cas le pourcentage était inférieur à 20% ce qui faisait penser que le fœtus n'avait pas atteint la 36^e ou du moins la 38^e semaine. Effectivement sous surveillance amnioscopique, les femmes accouchèrent à la 45^e, 44^e, 44^e semaine. Les fœtus n'étaient pas post-maturés. Il s'agissait donc, comme il est fréquent quand il s'agit d'un terme dépassé, d'une erreur du calcul du terme.

Devant un chiffre supérieur à 20% on ne peut cependant conclure à la certitude d'un terme dépassé.

E) - SOUFFRANCE FOETALE

Nous avons étudié quelques liquides méconiaux qui ne font pas partie des échantillons sélectionnés. L'examen cytologique n'est pas toujours facile car les lipides rejetés des cellules s'agglutinent sur les débris méconiaux. En cas de mort foetale les cellules prennent plus ou moins bien le colorant.

Il est vraisemblable que la souffrance foetale modifie la desquamation suivant son intensité, sa brutalité d'apparition, sa chronicité. Nous n'avons pu le démontrer formellement ici.

F) - EXCES DE LIQUIDE

En cas d'excès de liquide la recherche des cellules est gênée par la dilution. Il est souvent nécessaire de centrifuger à 3.000 tours pendant 5 minutes ou d'établir une numération sur plusieurs lames ce qui est aussi rapide. Nous sommes ainsi toujours parvenus à établir un pourcentage sur 100 cellules.

Soulignons que le fait d'établir un pourcentage entre deux types de cellules foetales permet d'exprimer un chiffre qui ne soit pas influencé par les variations de quantité du liquide amniotique.

G) - HYDRAMNIOS

SHARP observe 3 hydramnios qui à la 37° et à la 41° semaine avaient un taux virtuellement nul de cellules oranges. (15)

Nous avons eu la surprise d'observer une grossesse avec hydramnios qui avait des taux élevés de cellules oranges avant la 36° semaine. En outre, ces taux étaient en diminution progressive.

La date de début de grossesse est certaine. L'hydramnios est apparu au 5° mois. Son étiologie est indéterminée.

27° S. 47%

28° S. 43%

31° S. 33% Acc. 31° S. 1/2 1.700 Gr (non malformé)
vivant.

Ce pourcentage élevé de cellules oranges n'est pas dû à une diminution relative du nombre de cellules bleues mais à une augmentation absolue du nombre de cellules oranges. Nous ne savons comment interpréter ce résultat abérrant.

H) - EN CE QUI CONCERNE LE DIAGNOSTIC DE RUPTURE DES MEMBRANES

La recherche dans l'écoulement vaginal de cellules colorées en orange par le sulfate de Bleu de Nil a été utilisée pour reconnaître la rupture des membranes.

Nous avons été conduits à recueillir par voie basse du liquide amniotique afin d'en étudier la cytologie, ce qui nous a permis de préciser les limites de cet examen.

Les cellules oranges apparaissent à une date variable du terme mais étaient toujours présentes après la 36^e semaine. On peut affirmer la rupture des membranes lorsque le liquide qui s'écoule renferme des cellules oranges.

En leur absence aucune conclusion n'est possible, surtout si la grossesse est loin du terme de 36 semaines.

En outre il nous est arrivé de retrouver des cellules oranges dans le liquide amniotique prélevé par ponction alors que le liquide qui coulait par le col n'en contenait pas. On peut penser qu'un pareil écoulement est dû à la rupture d'une poche

amnio-choriale, l'amnios étant intact. Bien souvent d'ailleurs le travail se déclenche dans les heures qui suivent cette rupture et on est amené à rompre en cours de travail une 2ème poche des eaux.

En résumé : l'existence de cellules oranges dans l'écoulement de liquide permet d'affirmer la rupture des membranes. Leur absence ne permet pas d'affirmer leur intégrité.

CONCLUSIONS

A la suite d'autres auteurs, nous avons essayé de trouver un élément d'appréciation de la maturité foetale dans le pourcentage des cellules oranges présentes dans le liquide amniotique.

Cette maturité est particulièrement importante à connaître lorsque se pose le problème d'une interruption de la grossesse.

Notre expérience porte sur 230 liquides amniotiques prélevés chez 131 femmes, 57 d'entre elles ayant eu plusieurs ponctions.

Le sulfate de Bleu de Nil à 0, 1% est utilisé comme colorant suivant la technique de BROSENS & GORDON. Mais il nous a semblé qu'établir le pourcentage par rapport à certaines cellules foetales apportait une plus grande précision. C'est ainsi que nous établissons, sur 100 cellules, le pourcentage entre les cellules oranges et les cellules foetales superficielles de la peau. Ces dernières sont des cellules polygonales anucléées ou à noyau pycnotique.

Lorsque le pourcentage des cellules oranges est inférieur à 20% l'enfant était prématuré dans 96% des cas.

Lorsque ce pourcentage était supérieur à 20%, l'enfant était mûr dans 95% des cas.

La desquamation progressive des cellules oranges semble se faire suivant une courbe sigmoïde dont les deux points d'inflexion sont situés de part et d'autre de la 36^e semaine.

La signification des cellules oranges ne semble pas être modifiée dans les grossesses pathologiques.

Nous l'avons bien vérifié sur les 86 grossesses iso-immunisées aux réserves près que nous avons signalées.

Nous n'avons pas assez d'expérience pour conclure lorsqu'existent

- un diabète : 4 cas dont deux associés à une toxémie
- une hypotrophie foetale : 1 cas
- un hydramnios : 1 cas

Ainsi au même titre que la recherche radiographique des points d'ossification, que la mesure du diamètre bi-pariétal par les ultra-sons, que le dosage de la créatinine amniotique, l'examen cytologique du liquide amniotique peut être considéré comme une méthode utile pour apprécier la maturité foetale.

Vu et permis d'imprimer : Le Recteur de l'Académie de Paris

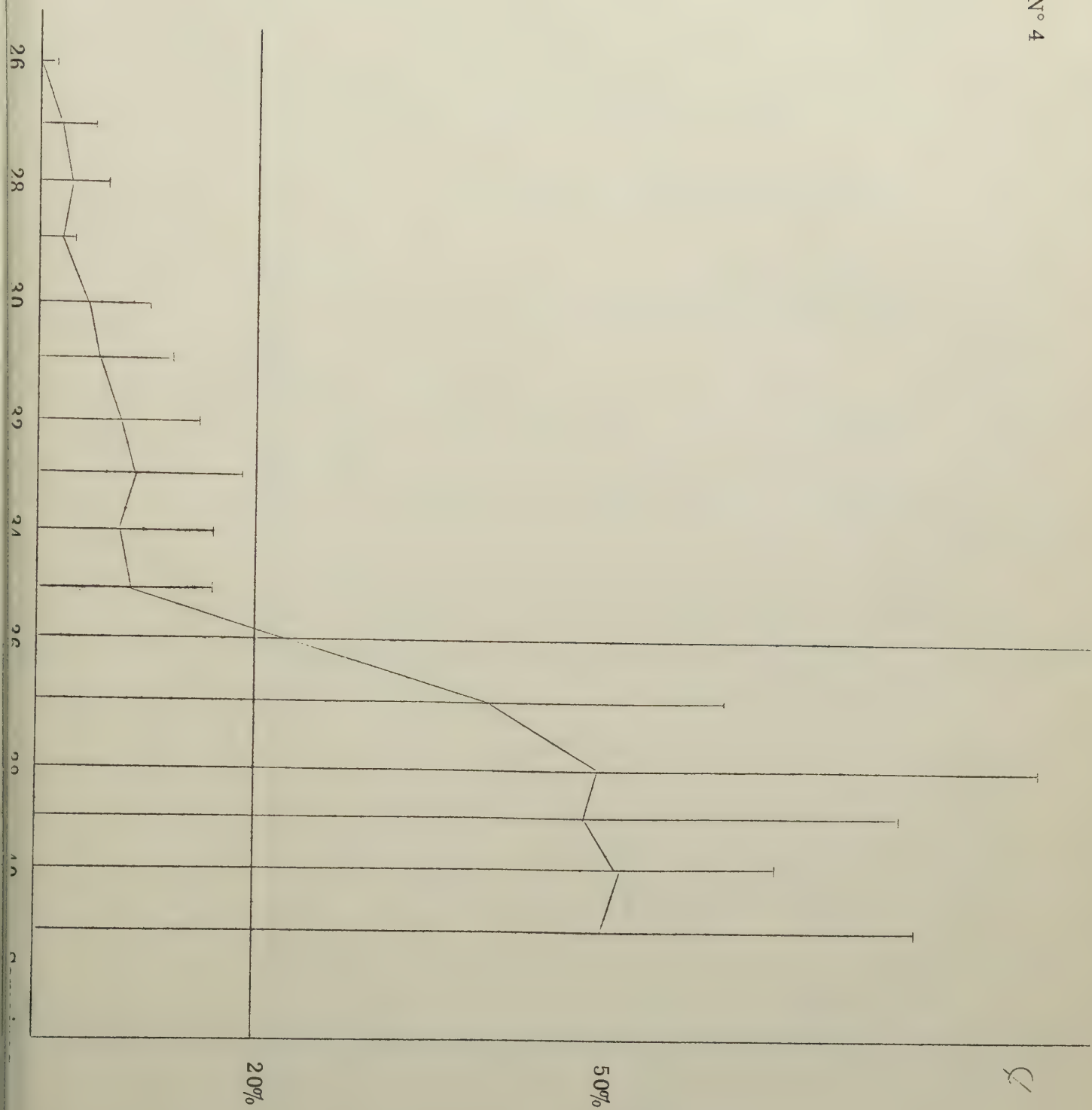
Le Doyen de la Faculté de
Médecine St-Antoine

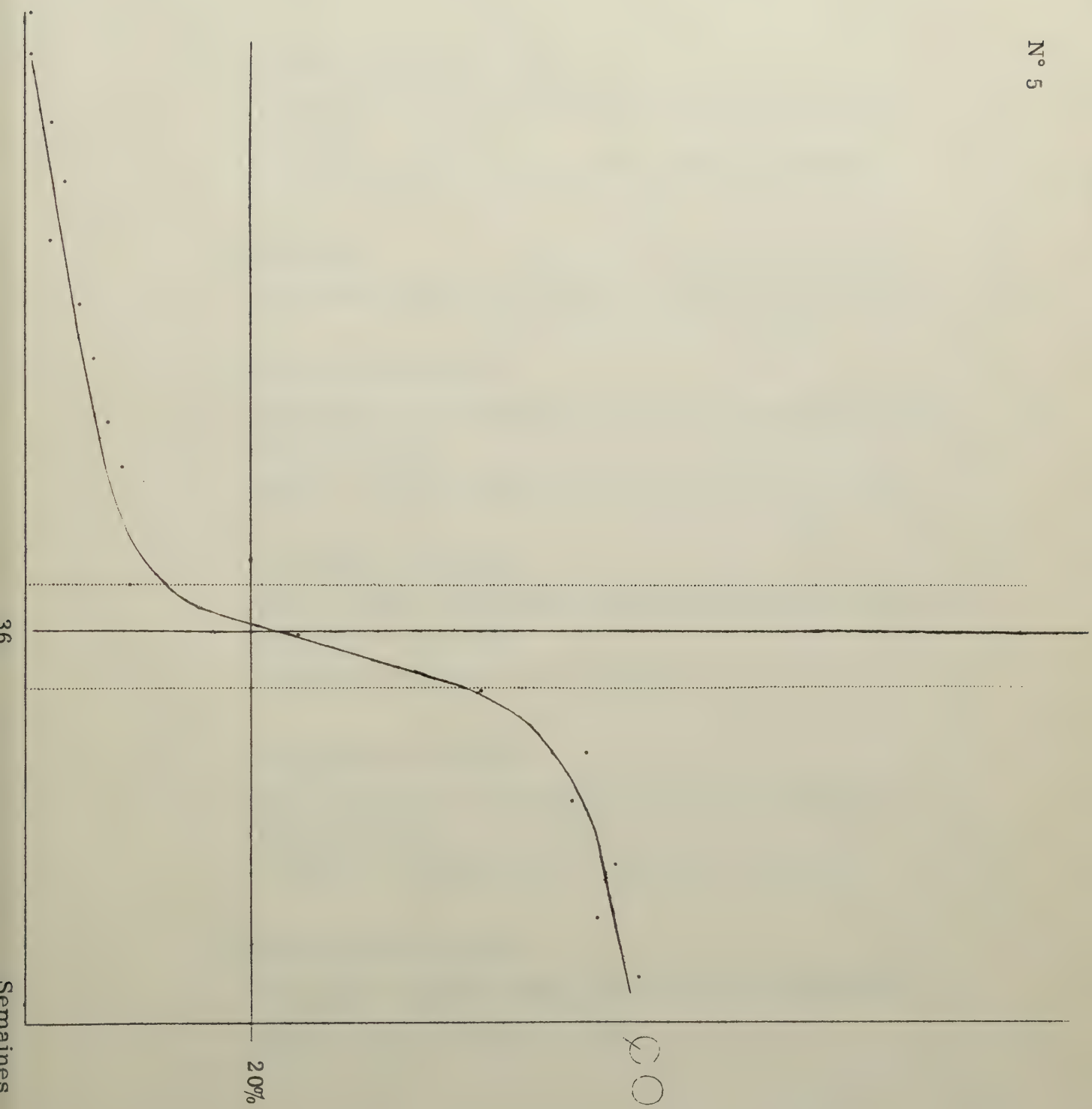
M. LOYGUE

Le Président de la thèse

R. MERGER

Nº 4





BIBLIOGRAPHIE

1 - ANDERSON & GRIFFITHS :

Estimation of duration of gestation by amniotic fluid cytology.

J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 1968, 75, 300-301

2 - BOURNE :

The Human Amnion and Chorion 1968 - Lloyd - Luke - London.

3 - BISHOP & CORSON :

Estimation of fetal maturity by cytologic examination of Amniotic fluid.

Amer. J. Obstet. Gynec. 1968 - 102 N° 5, 654 - 664

4 - BROSENS & GORDON :

The cytological diagnosis of ruptured membranes using Nile blue sulfate staining.

J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth 1965 - 72 - 342 - 346

5 - BROSENS & GORDON :

The estimation of maturity by cytological examination of the liquor amnii.

J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth 1966 - 73 - 88 - 90.

6 - BROSENS & GORDON :

Cytology of amniotic fluid, Anew test for fetal maturity.

Obstet. Gynec. 1967 - 30 - 652.

7 - CAMPBELL :

J. Obstet Gynaec. Brit. Cwlth. 1969 - 76 - 596

8 - CHAN & WILLIS :

The value of the Nile Blue sulfate stain in the cytology of the liquor amnii.

J. Obstet Gynaec. Brit. Cwlth. 1969 - 76 - 193 - 195

9 - FLOYD :

Amniotic fluid, filtration and cytology.

Obst. and Gynec. 1969 - 34 N° 4 - 583 - 591

10 - HOYES :

Ultra structure of the cells of the Amniotic. fluid.

J. Obstet Gynaec. Brit. Cwlth. 1968 - 75 - 164 - 171

11 - KITTRICH :

Zytodiagnostik des Fruchtwasserabflusses mit hilfe von nilblau.

Geburtsh. Frauenheil. 1963 - 23 - 156

12 - LIND :

The estimation of fetal growth and developpement.

British Journal of Hospital Medecine 1970 - Vol. 3 - 501-508

13 - MANDELBAUM & LACROIX :

Détermination of fetal maturity by spectrophotometric analysis of amniotic fluid.

Obstet. Gynec. 1967 - 29 - 471.

14 - PITKIN & ZWIREK :

Amniotic fluid creatinine

Amer. J. Obstet. Gynec. 1967 - 98 N° 8 - 1135 - 1139

15 - SHARP :

Estimation of fetal maturity by amniotic fluid exfoliative cytology.

J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 1968 - 75 - 812 - 815

16 - WACHTEL, GORDON, OLSEN :

Cytology of amniotic fluid

J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth 1969 - 76 - 596 - 602

17 - WYATT :

Estimation of fetal maturity by cytologic examination and creatinine determination of amniotic fluid.

Obst. Gynec. 1969 - 34 - 772 - 778.

